Контактная информации об авторах для переписки

Чертков Д.Д. Украина, 91008, г. Луганск, Артемовский р-н, ЛНАУ, кафедра ТПППЖ, тел.(0642)966001

Бараников А.И. 346493, ДГАУ, п. Персиановский, Октябрьский р-он, Ростовская обл. тел.8(86360)35150, www.dongau.ru

Чертков Б.Д. Украина, 91008, г. Луганск, Артемовский р-н, ЛНАУ, тел.(0642) 966001

Федоров В.Х. 346493, ДГАУ, п. Персиановский, Октябрьский р-он, Ростовская обл., e-mail: dpoms@rambler.ru тел.8(86360) 35149

Федюк В.В. 346493, ДГАУ, п. Персиановский, Октябрьский р-он, Ростовская обл. e-mail dgau-fedyuk@mail.ru тел 89185043619

Федорова В.В. 346493, ДГАУ, п. Персиановский, Октябрьский р-он, Ростовская обл., e-mail: dpoms@rambler.ru тел.8(86360) 35149

УДК 619:618.19 – 002:636.2

Павленко О.Б., Василенко В.Н.

(Воронежский государственный аграрный университет имени Императора Петра 1, Донской зональный НИИ селького хозяйства Россельхозакадемии)

СИМБИОНТНАЯ МИКРОФЛОРА ВЫМЕНИ ЗДОРОВЫХ КОРОВ И ТЕЛОК, ЕЕ РОЛЬ В ЭТИОЛОГИИ МАСТИТА

Ключевые слова: симбионтная микрофлора, дисбактериоз, мастит, стафилококк, стрептококк.

Введение.

Рост производства молока улучшение его санитарного качества в значительной мере сдерживаются распространением различных болезней сельскохозяйственных животных и в первую очередь мастита [3,5]. Несмотря на то, что к настоящему времени обстоятельно изучены вопросы этиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики мастита как у лактирующих, так и сухостойных коров, разработаны и апробированы программы борьбы с этим заболеванием, добиться существенного прогресса в ликвидации болезни не удается. Проблема мастита остается актуальной [2,4].

Работами отечественных и зарубежных ученых [5,6,10] установлено, что в возникновении и развитии мастита важную роль играют неблагоприятные факторы внешней и внутренней среды, микроорганизмы. Из перечисленных факторов особое значение в возникновении мастита придается микробному фактору. Из средств этиотропной терапии при мастите коров широкое применение получили противомаститные препараты с широким спектром противомикробного действия. Противомаститные препараты чаще применяют интрацистернально на протяжении 3-4 и более суток.

Данные по интрацистернальному применению противомаститных препаратов свидетельствуют о том, что такой способ лечения мастита имеет ряд недостатков: не обеспечивает излечения всех больных животных, ведет к снижению молочной продуктивности, развитию дисбактериоза, частому рецидивированию патологического процесса, атрофии пораженных долей вымени, снижению санитарного качества молока [1,3].

Организм животного обладает целым рядом защитных приспособлений к действию неблагоприятных физических, химических, биологических факторов, вызывающих патологическое воспаление. К их числу относится, прежде всего, механизм неспецифической (естественной) резистентности организма. Уровень неспецифической резистентности организма зависит от целого ряда факторов, в том числе и от микрофлоры, заселяющей организм [7,10].

Сразу после рождения, организм вступает в контакт с микроорганизмами, которые заселяют кожу, слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта и дыхатель-

ных путей; полости, соединенные с внешней средой. В различных участках организма формируются характерные, устойчивые ассоциации микробов, составляющие так называемую нормальную микрофлору, симбиотически связанную с макроорганизмом [5]. Развиваясь на слизистых оболочках, коже животного нормальная (симбионтная) микрофлора находится под постоянным влиянием организма и, в свою очередь, разнообразно влияет на него, определяя в значительной степени уровень неспецифической резистентности [8,10]. Микрофлора стимулирует развитие лимфоидной ткани (глоточные, язычные миндалены, пейеровы бляшки), селезенки, тимуса, лимфатических узлов, образование специфических средств защиты организма – иммуноглобулинов [8,9,10].

При лечении мастита с применением противомикробных средств широкого спектра противомикробного действия погибает не только патогенная, но и симбионтная микрофлора молочной железы. Это приводит к снижению неспецифической резистентности тканей молочной железы, развитию дисбактериоза. В молочной железе создаются благоприятные условия для размножения антибиотикоустойчивых микроорганизмов, рецидивированию патологического процесса [1,3].

Цель исследования.

Учитывая, что данные литературы по видовому составу, количеству и биологическим свойствам нормальной микрофлоры молочной железы у здоровых лактирующих коров, телок довольно ограничены и противоречивы, а механизмы, лежащие в основе ее изменений в физиологических условиях не изучены [3,6], при проведении научно-исследовательской работы были поставлены к разрешению следующие задачи: изучить видовой состав микрофлоры вымени здоровых лактирующих коров и телок; антагонистические, патогенные и иммунные свойства симбионтной микрофлоры; практические аспекты применения симбионтной микрофлоры для восстановления биоценоза в молочной железе после медикаментозной терапии мастита.

Материал и методы исследований.

Научно-исследовательскую работу выполняли на молочно-товарной ферме учхоза «Донское», областной лаборатории. В процессе выполнения работы обследовали лактирующих коров, телок на мастит с использованием клинических и лабораторных методов исследований. От здоровых животных брали пробы секрета для бактериологического исследования. Путем посева на элективные среды выделяли симбионтную микрофлору молочной железы, изучали ее видовой состав, биологические свойства по методикам, применяемым в микробиологии. Иммуногенные свойства симбионтной микрофлоры молочной железы изучали путем обнаружения специфических антител в обезжиренном молоке к испытуемым штаммам реакцией агглютинации.

Из числа выделенных и изученных штаммов симбионтной микрофлоры отобрали апатогенные штаммы с хорошо выраженными антагонистическими свойствами для апробации с целью лечения и профилактики мастита и дисбактериозов.

Опыт по профилактике дисбактериозов провели на животных, подвергавшихся лечению по поводу мастита с применением противомаститных препаратов с широким спектром противомикробного действия. Учет профилактического действия испытуемых штаммов симбионтной микрофлоры при мастите проводили по принятым в ветеринарии методикам.

Результаты выполнения работы.

При бактериальном исследовании 30 проб секрета из здоровых долей вымени лактирующих коров установили, что в 27(90,0%) пробах содержалась микрофлора. В 1 мл секрета содержание микробных клеток варьировало от 490 до 50400, составляя в среднем 9252. Из 27 проб секрета выделили 52 штамма микроорганизмов, из которых 40 отнесли к стафилококкам, 7- к стрептококкам и 5 – к кишечной палочке (по характеру роста на поверхности мясо-пептонного агара и среде Эндо). В 26 (96,3%) пробах из 2, обсемененных микрофлорой, обнаружили стафилококков. Из 40 штаммов стафилококков, выделенных их секрета, по культуральным свойствам 24 отнесли к белому, 9 – к золотистому и 7 – к лимонно-желтому стафилококку.

У исследованного поголовья лактирующих коров микрофлора в молочной железе была неоднородной. В секрете 12–ти коров она была представлена монокультурой с преобладанием белого стафилококка (в 10 пробах из 12). В секрете 15 коров обнаружены ассоциации микроорганизмов, представленные стафилококками, стрептококками и кишечной палочкой. Среди ассоциативной микрофлоры преобладали стафилококки и стрептококки.

Учет роста микрофлоры из смывов молочной железы годовалых здоровых телок показал, что микрофлора содержит-

ся в 77.7% проб. В 1 мл смыва содержится в среднем 311 микробных клеток с колебанием от 110 до 440. Из 7 проб выделено 11 штаммов микроорганизмов, в том числе 7 штаммов белого, 3 штамма золотистого стафилококка и один штамм кишечной палочки. Белый стафилококк выделен из всех семи контаминированнных проб.

В 3 (43,0%) из 7 проб микрофлора представлена монокультурой белого стафилококка. Смыв со слизистой молочной железы 4–х телок содержал ассоциацию микроорганизмов, представленную в 3 случаях белым и золотистым стафилококками и в одном случае – белым стафилококкам и кишечной палочкой. В 1 мл смыва, содержащего ассоциацию микроорганизмов, содержание клеток белого стафилококка в 2 раза превышало содержание золотистого стафилококка и кишечной палочки.

Антагонистические свойства симбионтной микрофлоры, выделенной из секрета молочной железы здоровых лактирующих коров и со смывов слизистой оболочки цистерны телок, изучали методом газона. Исследовано 20 штаммов стафилококков. Материалы по изучению антагонистических свойств испытуемых штаммов стафилококков обобщены в таблице 1.

Из материалов таблицы 1 видно, что

Таблица 1.

Антагонистические свойства испытуемых штаммов стафилококков.

№ п/п	Объект выделения штаммов	Кол-во штаммов	Действие штамма на рост газона					
			Угнетение		Задержка		Не влияет на рост газона	
			всего	%	всего	%	всего	%
1	телки	9	7	77,8	-	-	2	22,2
2	коровы	11	10	90,9	-	-	1	9,1

из 9 испытуемых штаммов, выделенных из молочной железы телок, семь обладают способностью угнетать культуру газона. Зоны угнетения роста газона у испытуемых штаммов колебались от 1 до 6 мм. Следует отметить, что диапазон антагонистического действия у большинства штаммов ограничивался 1-2 культурами газона и только один штамм угнетал рост трех (33,3%) культур газона.

Из 11 штаммов стафилококков, выделенных от коров, антагонистические свойства были выражены у 10, с зонами угнетения роста газона от 1 до 2 мм. Из 10 штаммов стафилококков, обладающих антагонистическими свойствами, восемь угнетают рост 2 -3 культур газона.

Материалы по изучению патогенных свойств штаммов стафилококков, изолированных из секрета молочной железы здоровых коров и со слизистой цистерны телок обобщены в таблице 2.

Таблица 2

Патогенные свойства стафилококков, выделенных от здоровых коров и телок.

№ п/п	Объект выделения культуры	Кол-во штаммов	Форма колоний		Каталазная активность		Реакция плазмокоагуляции		Характер гемолиза			
			S	R	+	-	+	_	£	β	£β	Отсут.
1	телки	9	6	3	9	-	-	9	5	2	1	1
2	коровы	11	10	1	8	3	2	9	10	-	1	-

Из приведенных в таблице 2 данных видно, что штаммы стафилококков, выделенных от телок, при росте на кровяном МПА в 33,3% случаев образуют R - формы колоний. Среди штаммов стафилококков, выделенных от коров, R -формы обнаружены в 9,1 % случаев.

Изучение каталазной активности показало, что все стафилококки, изолированные от телок и 72,7% стафилококков, выделенных из секрета молочной железы здоровых коров, обладают каталазной активностью, но не в одинаковой степени.

Основными критериями патогенности

стафилококков являются гемолитическая активность и плазмокоагулирующая способность. Гемолитической активностью обладали все штаммы стафилококков, выделенные от коров и 8,9% штаммов, выделенных от телок. При росте на кровяном МПА у большинства штаммов (75,0%) наблюдался L-гемолиз. Лучше гемолитическая активность выражена у стафилококков, выделенных от коров. Зона гемолиза вокруг колоний у этих штаммов была на 0,4 мм (12,5%) больше, чем у стафилококков, выделенных от телок.

Изучение плазмокоагулирующих свойств показало, что все штаммы, выделенные от телок, и 87,8% штаммов, выделенных от коров, не обладали плазмокоагулирующими свойствами.

Иммуногенные свойства симбионтной микрофлоры молочной железы здоровых коров изучала путем обнаружения специфических антител в сыворотке крови и обезжиренном молоке реакцией агглютинации к испытуемым штаммам. Наличие специфических антител в сыворотке крови определяли у шести коров к 17 штамма стафилококков и двух – стрептококков. Материалы опыта свидетельствуют о том, что 76,5% испытанных штаммов стафилококков и оба штамма стрептококков обладают иммуногенными свойствами. Титр антител к испытуемым штаммам колебался от 1:15 до 1:6400. Следует отметить, что штаммы стафилококков обладают лучшими иммуногенными свойствами, чем штаммы стрептококков. Специфические антитела к испытуемым штаммам симбионтной микрофлоры обнаружены и в обезжиренном молоке.

Изучив видовой состав микрофлоры вымени здоровых коров и телок, ее антагонистические, патогенные, иммуногенные свойства, на заключительном этапе исследований провели опыт по выяснению возможности применения симбионтной микрофлоры для лечения коров, больных субклиническим маститом, и профилактики дисбактериоза.

Материалы опыта свидетельствуют о том, что применение симбионтной микрофлоры, обладающей антагонистическими, апатогенными свойствами для лечения больных животных первой опытной группы оказалось недостаточно эффективным. По окончании курса лечения излечена одна корова из семи и четыре доли вымени из 12. Наблюдение за животными этой группы показало, что процесс излечения пораженных долей вымени продолжался и по завершению курса лечения. К концу второго месяца после постановки на опыт в этой группе отрицательно прореагировал на тест с мастидином секрет из семи долей, то есть пораженных снизилось на 33,3%. За три месяца наблюдений среди животных этой группы зарегистрировано два новых случая поражения долей вымени субклиническим маститом. Таким образом, за три месяца наблюдений в этой группе излечено 58,3% долей. Динамика лечения субклинического мастита у коров этой группы не отличалась от контрольной.

Применение мастисанаА в сочетании с коррекцией биоценоза молочной железы по завершению курса лечения обеспечило излечение пяти коров и восьми долей, что соответственно на 14,3, и 12,8% выше, чем в контрольной группе. В течение последующих двух месяцев в этой группе выздоровело еще две доли вымени. Таким образом, за период опыта излечено 83,3% пораженных долей. За это же время зарегистрировано два новых случая поражения долей вымени субклиническим маститом.

Трехкратное интрацистернальное применение мастисанаА на коровах контрольной группы обеспечило излечение 57,1% животных и 53,9% пораженных долей. Последующим наблюдением за течением субклинического мастита у коров этой группы установлено, что существенных изменение в течение заболевания не произошло. В шести не излеченных долях вымени патологический процесс продолжал развиваться на протяжении всего опыта. Новых случаев поражения долей вымени субклиническим маститом у коров этой группы не выявлено.

Заключение.

Результаты бактериологических исследований молока из здоровых долей молочной железы лактирующих коров и смывов со слизистой оболочки молочной цистерны телок свидетельствуют о том, что как у коров, так и телок микрофлоры молочной железы представлена в основном стафилококками. У коров стафилококки составляют 77,0, а у телок 90,9% от всей микрофлоры вымени. Среди штаммов стафилококков у коров и телок превалирует белый стафилококк (60,0 и 63,6% соответственно). В смыве со слизистой оболочки молочной железы телок не обнаружены стрептококки, лимонно-желтые стафилококки.

Подавляющее количество штаммов стафилококков, выделенных как от коров,

так и от телок, обладают антагонистическими, гемолитическими свойствами и каталазной активностью. У стафилококков, изолированных от коров, эти свойства выражены лучше. 76,5% штаммов стафилококков, выделенных из секрета здоровых долей молочной железы коров, обладают иммуногенными свойствами.

Среди штаммов стафилококков, изолированных из молочной железы 12 –ти месячных телок, у 33,3% штаммов, отмечается диссоциация колоний на S и R –формы при росте на кровяном агаре, что в 3,6 раза превышает случаи появления R – форм колоний среди культур, выделенных от коров. Это позволяет высказать предположение о том, что симбионтная микрофлора в молочной железе телок еще не сформировалась, идет процесс адаптации ее к новым условиям существования.

Штаммы стафилококков, выделенные из молочной железы телок, не обладают патогенными свойствами. В секрете здоровых лактирующих коров 22,2% штаммов стафилококков являются патогенными (по культуральным свойствам).

Применение симбионтной микрофлоры, обладающей антагонистическими свойствами, при субклиническом мастите лактирующих коров по лечебной эффективности не уступает маститсану А, хотя сроки излечения пораженных долей вымени увеличиваются до двух месяцев.

После окончания курса лечения субклинического мастита с применением мастисана А целесообразно проводить коррекцию биоценоза молочной железы с использованием симбионтной микрофлоры. Это позволяет повысить на 21,8% эффективность лечения, профилактировать дисбактериозы.

Резюме: В статье представлены опыты по изучению симбионтной микрофлоры вымени здоровых коров и телок, выделенная микрофлора молочной железы представлена в основном стафилококками, подавляющее количество которых обладает антагонистическими, гемолитическими свойствами и каталазной активностью.

SUMMARY

The paper presents experiments on the symbiotic microflora of the udder of healthy cows and heifers selected microflora of breast cancer is represented mainly by staphylococci, which has a vast amount of antagonistic hemolytic properties and catalase activity.

Keywords: symbionty microflora, a dysbacteriosis, mastitis, stafilococcus, a streptococcus.

Литература

1. Гапонов Н.Н. Стафилококковая инфекция животных / Н.Н. Гапонов //Сб. науч.тр.- Горький, 1985.- С.44-45.
2. Ивашура А.И. Усовершенствование диагностических и лечебных препаратов для борьбы с маститами коров / А.И. Ивашура, А.В. Наследников // Научные труды. - Ставрополь, 1998. - С.69-71.
3. Иноземцев В.П. Лазерная терапия животных – эффективно и экологически безопасно / В.П. Иноземцев, И.И. Балковой, Б. Таллер //Молочное и мясное скотоводство. – 1997. - №4. – С.30.
4. Калмыкова Л.И. Видовая идентификация стафилококков, выделенных из молока коров и помещений молочных ферм / Л.И. Калмыкова //Научные труды ВНИВИФиТ. – Воронеж, 1997. – С. 387.
5. Кузьмин Г.Н. Эпизоотические особенности мастита кокковой этиологии у коров/ Г.Н. Кузьмин //Материалы научной конференции, посвященной 70-летию факультета ветеринарной медицины Воронежского агроуниверситета им. Глинки. - Воронеж, 1996 .- Гл.1. - С.185-186.
6. Опыт применения лазера для лечения животных / И.М. Стрельцов, Н.А. Мамонов, С.Н. Ершов и др. //Ветеринария. – 2001. - №2. – С.33-35.
7. Париков В.А. Состояние и перспективы исследований по лечению и профилактике мастита у коров / В.А. Париков, В.И. Слободяник //Материалы Всерос. науч. и учебно-метод. конференции. Воронеж, 1994. – С.20-21.
8. Слободяник В.И. Эффективность комплексной терапии больных маститом лактирующих коров / В.И. Слободяник, Е.В. Зверев //Сб. науч. тр. – СПб, 2003. – С.109-110.
9. Чернова О.Л. Особенности микрофлоры и содержание лизоцима в молоке при мастите коров / О.Л. Чернова //Ветеринария. – 2001. -№4. – С.32-34.
10. Fox L. Staph. Aureus: Surce, Jmpact / L. Fox // Dairj Herd Monag. - 1990. - №27. - P.6-32.

Контактная информации об авторах для переписки

Павленко Ольга Борисовна, кандидат ветеринарных наук, ст.преподаватель кафедры акушерства и физиологии с/х животных ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени Императора Петра 1», kobra_64.64@mail.ru.

Василенко Вячеслав Николаевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Донской зональный НИИ селького хозяйства Россельхозакадемии